



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA**

**“COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE AMSEL,
NUGENT, ISON-HAY PARA EL DIAGNÓSTICO DE
VAGINOSIS BACTERIANA EN EL HOSPITAL
REGIONAL ISSSTE PUEBLA”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA:
pQ.F.B. ANAHI HERNANDEZ ROMERO**

**DIRECTOR DE TESIS
Q.F.B. GUADALUPE JIMENEZ FLORES**

**ASESOR
M.C. PATRICIA GUADALUPE SUAREZ ALBORES**

**ASESOR TÉCNICO
M.S.P. CLAUDY LORENA VILLAGRAN PADILLA**

JUNIO 2017



AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado a lo largo de mi carrera y por permitirme llegar hasta este momento.

A mi papá Marín Hernández Salas, por toda la dedicación que ha tenido para mí, desde siempre, gracias por todas las enseñanzas, el cariño, la paciencia y los valores inculcados, porque si he llegado hasta donde estoy, ha sido gracias a él.

A mi mamá Judith Romero Nájera, por enseñarme a ser responsable, a ser valiente y a confiar en mi misma, por el apoyo y el amor incondicional que siempre me ha brindado, porque a pesar de todos los errores cometidos sé que siempre voy a poder contar con ella.

A mi hermana Aris, por apoyarme siempre cuando la necesitaba, por ser la mejor amiga.

A mi directora de tesis, la Química Lupita, gracias por haberme confiado este trabajo, por su paciencia y por su valioso apoyo para la conclusión del mismo.

A las maestras Paty y Claudy, por tomarse el tiempo necesario para orientarme, para hacerme correcciones, por sus consejos y su gran apoyo a lo largo de este proceso.

Un agradecimiento especial al maestro Alejandro Ruíz Tagle, por su valiosa orientación en el análisis de datos de este trabajo.

A los integrantes de mi jurado por haberse tomado el tiempo para realizar correcciones y darme consejos a lo largo de este proyecto.

A mis padrinos, Gregorio y Ernestina, por ser de las personas que con su cariño y apoyo son parte fundamental de mi vida.

A mi mejor amiga, Lucia Razo, no sabes cuánto le agradezco a la vida que nos haya puesto en el mismo camino, gracias por todo el cariño, apoyo y la motivación que me has dado a lo largo de estos 6 años.

Y por último, pero no menos importantes, a mis amigos, especialmente a Gloria, Inés, Nataly, Viri, por todos los momentos compartidos, en los exámenes y trabajos y por haber hecho de esta etapa algo simplemente maravilloso; y a todos los demás, que me sería imposible mencionar, por ser o haber formado parte de mi vida, simplemente, gracias por todo y por tanto.

ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN.....	5
2. INTRODUCCIÓN.....	6
3. MARCO TEÓRICO	8
3.1. Generalidades	8
3.2. Microbiota normal de la vagina.....	9
3.3. Infecciones vaginales más frecuentes.....	12
3.4. Definición de vaginosis bacteriana.....	14
3.5. Epidemiología	14
3.6. Factores de riesgo asociados a la vaginosis bacteriana	15
3.7. Bacterias asociadas a la vaginosis bacteriana	16
3.7.1. <i>Gardnerella vaginalis</i>	16
3.7.2. <i>Mobiluncus spp</i>	17
3.7.3. <i>Prevotella spp</i>	18
3.7.4. <i>Atopobium vaginae</i>	18
3.7.5. <i>Bacteroides fragilis</i>	18
3.8. Fisiopatología.....	18
3.9. Manifestaciones clínicas.....	19
3.10. Diagnóstico.....	20
3.10.1. Criterios de Amsel.....	20
3.10.2. Criterios de Spiegel	21
3.10.3. Criterios de Nugent	21
3.10.4. Criterios de Ison-Hay.....	23
3.10.5. Cultivo y técnicas moleculares	23
3.11. Tratamiento	24
4. MARCO DE REFERENCIA	25
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
6. JUSTIFICACIÓN	27
7. OBJETIVOS	28
7.1. OBJETIVO GENERAL	28
7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
8. HIPÓTESIS	28

9.	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	29
9.1.	Tipo de estudio.....	29
9.4.	Sede y lugar de estudio.....	29
9.5.	Criterios de selección	29
9.6.	Recursos humanos.....	29
9.7.	Recursos financieros	30
9.8.	Diseño estadístico.....	30
10.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
11.	DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO.....	33
12.	RESULTADOS.....	35
13.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	42
14.	CONCLUSIONES.....	46
15.	ANEXOS	47
15.1.	Anexo A: Criterios de rechazo de solicitudes y/o muestras.....	47
15.2.	Anexo B: Criterios para diagnóstico de vaginosis bacteriana.....	48
15.3.	Anexo C: Observación al microscopio de las distintas categorías de Ison-Hay.....	49
16.	BIBLIOGRAFÍA	51

1. RESUMEN

Objetivo: Comparar los métodos de Amsel, Nugent, Ison-Hay para el diagnóstico de vaginosis bacteriana en el Hospital Regional ISSSTE Puebla, para determinar cuál es el mejor en el diagnóstico de esta infección. **Introducción:** Las infecciones vaginales son muy comunes en las mujeres en edad reproductiva, de estas infecciones destaca la vaginosis bacteriana que se caracteriza por la ausencia de inflamación, se considera que es una infección polimicrobiana, causada principalmente por microorganismos anaerobios y de cultivo fastidioso, por lo que éste no es tan aplicable como método de diagnóstico, siendo utilizadas en su lugar las características clínicas y la microscopía como medios de detección. **Material y métodos:** En el estudio realizado participaron 355 pacientes, los exudados vaginales y vulvares se analizaron por los métodos de Amsel, Nugent e Ison-Hay. **Resultados:** La prevalencia de vaginosis bacteriana se da frecuentemente en mujeres de 33-40 años, el microorganismo con más frecuencia de observación fue *Gardnerella vaginalis*, seguido de *Candida sp.* Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre los métodos, aunque al obtener en porcentaje, el método de Ison-Hay fue el que tuvo un mayor porcentaje de detección. **Conclusión:** No se encontraron diferencias significativas entre los métodos por lo que la hipótesis no se comprueba, pero se recomienda el uso del método de Ison-Hay, ya que es más rápido para realizar el diagnóstico, el gasto económico es menor al método de Amsel, y presenta una mayor discrepancia en cuanto a la microbiota vaginal.

2. INTRODUCCIÓN

La vaginosis bacteriana es un síndrome que se caracteriza por la disminución de la microbiota normal de la vagina compuesta principalmente por distintas especies de *Lactobacillus* con el consiguiente aumento de *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp*, *Prevotella sp*, y otras bacterias anaeróbicas fastidiosas en su crecimiento. La vaginosis se caracteriza por no causar inflamación y sólo el 50% de las mujeres que cursan con esta patología presentan síntomas, entre los que destacan un flujo abundante de color grisáceo/blanquecino y olor fétido (que es descrito como “olor a pescado”).

Es una infección que se presenta en mujeres en edad reproductiva, se ha observado mayor incidencia en aquellas que han tenido múltiples parejas sexuales, un inicio de vida sexual temprano, en mujeres que consumen cigarrillos, que utilizan duchas vaginales, entre otras. La razón del porque se realiza su estudio es que causa complicaciones como la enfermedad pélvica inflamatoria y se sugiere que puede predisponer que las mujeres sean más susceptibles a infecciones por VIH, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, y en mujeres embarazadas puede causar aborto y ruptura prematura de membranas.

A lo largo del tiempo se han propuesto diversos métodos para diagnosticar vaginosis bacteriana; entre los que se encuentran los que evalúan la parte clínica, la visualización de microorganismos en el microscopio y más recientemente el empleo de biología molecular para conocer con más exactitud el microorganismo que se encuentra presente, aunque esta técnica se utiliza principalmente en investigación.

A pesar de que el cultivo es uno de los métodos más empleados en la identificación de los microorganismos no es útil en el diagnóstico de vaginosis bacteriana debido a que los agentes que causan esta infección necesitan requerimientos especiales para su crecimiento. El propósito general de esta investigación consiste en comparar los tres métodos más usuales utilizados en el laboratorio, para conocer cuál es el más efectivo.

Los métodos comparados consideran diferentes variables, el método de Amsel se enfoca más en la parte clínica, el método de Nugent se basa en una escala del 0 al 4 para otorgar una calificación de acuerdo al número de microorganismos por campo y realizando una

sumatoria, mientras que el método de Ison-Hay considera cinco grados y considera tanto células como microorganismos presentes en el extendido.

La comparación de los métodos se realizó a partir de muestras obtenidas de exudados vulvares y vaginales de mujeres que se presentaron a consulta durante el periodo comprendido de febrero a agosto de 2016, se realizó una observación del flujo vaginal, prueba de aminas, medición del pH en tira reactiva, extendido de la muestra en un portaobjetos, el cual se fijó con calor y se le realizó la tinción de Gram, para su posterior observación en el microscopio

Se realizó la comparación estadística mediante la prueba de chi cuadrada de los tres métodos para comprobar si existía una diferencia estadísticamente significativa, además se obtuvo la frecuencia de las edades en las que se puede presentar esta infección.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Generalidades

El aparato reproductor femenino puede dividirse de acuerdo a su localización en dos: el tracto inferior, compuesto de vulva, vagina y cuello uterino y el tracto superior, conformado por útero, trompas uterinas, ovarios y cavidad abdominal.¹

Los genitales externos también conocidos como vulva, están conformados por el monte de Venus, labios mayores y menores, clítoris, meato uretral, entre otros. Están recubiertos por epitelio escamoso estratificado y queratinizado, y la mucosa que conforma el vestíbulo guarda semejanza con la mucosa vaginal, presentando glucógeno en la etapa reproductiva.²

La vagina es un conducto músculo membranoso que se encuentra entre la vejiga y el recto, presenta una longitud media de 10 a 12 cm,³ alrededor del cuello al unirse con el exocérnix crea un canal circular llamado fórnix o domo vaginal. Se le divide en cuatro fondos de saco para su estudio, de los cuales uno es anterior, dos laterales y uno posterior. La pared de la vagina presenta tres capas:

- Mucosa: Dispuesta de manera rugosa, con formación de pequeños pliegues, cuyo espesor va de acuerdo al estímulo hormonal, presenta un epitelio escamoso estratificado que contiene glucógeno. Cuando existe un estímulo por estrógenos el grosor aumenta, mientras que un estímulo progestacional provoca su maduración, lo que ocasiona una carga de glucógeno. Situado por debajo del epitelio está la lámina propia constituida por tejido conectivo.
- Muscular: Presenta fibras musculares lisas.
- Adventicia: Tejido conectivo laxo.²

El cuello uterino es la parte inferior del útero y está dividido a su vez en dos: el exocérnix que es el que protruye dentro de la vagina y el endocérnix o canal endocervical. El exocérnix está formado por epitelio escamoso no queratinizado que es similar al epitelio vaginal, durante la edad reproductiva de la mujer los estrógenos y la progesterona favorecen el crecimiento, maduración y descamación del epitelio; pero en la etapa posterior a la menopausia, se

produce una atrofia del epitelio, ocasionando una disminución en su grosor, y por lo tanto pérdida de funcionalidad, lo que favorece las infecciones y los sangrados.²

El endocérnix presenta células cilíndricas mucíparas y células cilíndricas ciliadas las cuales coadyuvan en el transporte del moco. Este moco, está presente debido a un estímulo hormonal; los estrógenos provocan la estimulación de estas células, lo que resulta en un moco abundante, alcalino y acuoso, que favorece la penetración espermática; la progesterona provoca, por el contrario, la disminución del moco que es ácido y grueso y que tiene como característica no permitir el paso de los espermatozoides.²

Las funciones generales de la vagina son el drenaje de flujo menstrual, cópula y el parto.³ El pH vaginal presente en una mujer madura que no se encuentra en etapa gestante, se localiza entre 4 y 5, esto permite una función antimicrobiana, no se sabe con exactitud cuál es la razón de que el pH se encuentre en estos valores, pero se cree que puede ser por los ácidos grasos, la producción de ácido láctico; además de ser originado por la fermentación por parte de los *Lactobacillus* a los aminoácidos, resultando en ácidos orgánicos.²⁴

La mucosa vaginal contiene glucógeno que sirve como nutriente para las bacterias del ecosistema vaginal las cuales lo metabolizan en ácido láctico, de esta forma, cuando en la menopausia la cantidad de glucógeno contenido en las células epiteliales de la vagina disminuye se produce una elevación del pH vaginal.²⁴

Las hormonas sexuales realizan funciones importantes sobre los órganos sexuales; el estrógeno al actuar sobre la vagina provoca cambios epiteliales, proliferación epitelial con aumento de glucógeno intracelular, en el cuello uterino provoca cambios epiteliales, y la presencia del moco característico. La acción de la progesterona en el cuello uterino es provocar que el moco cervical no sea receptivo para espermatozoides provocando que las glucoproteínas que lo constituyen formen una trama que impida el paso.²⁵

3.2. Microbiota normal de la vagina

Los microorganismos que se encuentran habitando típicamente la vagina son bacilos grampositivos, con predominancia de *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* y *Lactobacillus iners* y *Lactobacillus gasseri*,⁴ además de otras bacterias grampositivas o

gramnegativas anaerobias estrictas que se encuentran típicamente habitando el tracto intestinal, por lo cual se sugiere que éste podría actuar como reservorio.⁷

El complejo *Lactobacillus acidophilus* está conformado por bacterias saprófitas cuya función es la defensa del ecosistema vaginal, también es posible encontrar a difteroides, estreptococos, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*. Los lactobacilos están incluidos dentro del grupo de bacterias ácido lácticas y los lactobacilos vaginales tienen la cualidad de utilizar el glucógeno que se encuentra en las células epiteliales vaginales como el sustrato para poder realizar su metabolismo.⁶

Los lactobacilos pueden presentarse como formas cortas o muy alargadas, rectos o curvados, no esporulados, fermentativos, son bacterias anaerobias aerotolerantes y muy exigentes nutricionalmente, por lo que para su cultivo se recomienda la incubación en medios enriquecidos con hemo (sangre, hemoglobina o hemina) y la atmósfera enriquecida con CO₂. Presentan propiedades que les permiten la colonización de la mucosa y son fundamentales para el mantenimiento del ecosistema vaginal; asimismo impiden la proliferación de microorganismos patógenos con propiedades como:

- Adherencia específica a células epiteliales: La protección se da a partir de un reconocimiento entre las adhesinas que pertenecen a los lactobacilos y los receptores del epitelio, esto conduce a la formación de una biopelícula que brinda protección frente a la colonización por microorganismos patógenos.⁷
- Producción de compuestos antimicrobianos:
 - ❖ Ácidos orgánicos: Provocando la fermentación de la glucosa por parte de los lactobacilos para generar ácido láctico que es el responsable de no permitir la colonización por otros microorganismos.⁷
 - ❖ Peróxido de hidrógeno: *L. crispatus* y *L. jensenii* son las especies de lactobacilos que más comúnmente producen peróxido de hidrógeno, por lo cual sus cepas presentan mayor estabilidad en el área vaginal y también brindan mejor protección a la mucosa ante alteraciones causadas por otros microorganismos. El peróxido de hidrógeno presenta un efecto bactericida debido a su capacidad oxidante y a que genera metabolitos como el radical

OH que provoca daño al ADN celular. Debido a la acción de mieloperoxidasas y radicales haluros este efecto, se potencia.⁷

- ❖ Bacteriocinas: Son polipéptidos que presentan actividad antimicrobiana, ya que ocasionan la apertura de poros en las membranas, teniendo como consecuencia la lisis celular.⁷
- ❖ Agentes tensoactivos: Son capaces de solubilizar lípidos, por lo cual pueden ser letales para *Mycoplasma*, debido a su carencia de pared celular. También provocan una disminución en la tensión superficial, favoreciendo de esta forma la solubilización de sustancias hidrofóbicas.⁷

La microbiota vaginal se debe considerar como una población que presenta un estado dinámico, donde la presencia de los tipos y niveles oscilan en un ambiente en constante cambio, el cual está provocado por influencias endógenas como son la menstruación, edad, estado hormonal, embarazo; y exógenas como frecuencia de relaciones sexuales, uso de tampones, antibióticos y anticonceptivos.¹⁶ Los lactobacilos presentan problemas de crecimiento en presencia del flujo menstrual o de semen, esto debido al pH cercano a la neutralidad. Algunos dispositivos intrauterinos como son los espermicidas inhiben igualmente el desarrollo de los lactobacilos. Se debe también tomar en cuenta que las infecciones del tracto urinario son inversamente proporcionales a la presencia de una microbiota vaginal normal.⁷

Al momento del nacimiento, las infantas presentan un ambiente vaginal estéril, días después hay aumento del estrógeno, por lo que existe una elevación del glucógeno en las células epiteliales vaginales, lo que provoca la colonización por parte de lactobacilos. Al cese de la lactancia materna existe una disminución de estrógeno por consiguiente del glucógeno y los lactobacilos empiezan a menguar; por lo tanto, la microbiota de una niña hasta su pubertad va a estar conformada por estafilococos coagulasa negativa, estreptococos, *Escherichia coli* y una cantidad realmente baja de lactobacilos.⁵

Con la aparición de la primera menstruación, se produce estrógeno, lo cual provoca un engrosamiento en la mucosa vaginal y aumenta la producción de lactobacilos, lo que trae como consecuencia la proliferación de lactobacilos, que conformaran la microbiota predominante de la mujer fértil. Durante la menopausia, los lactobacilos son reemplazados

por microbiota mixta, conformada por *Mycoplasma* y bacterias anaerobias, entre ellas, *Gardnerella vaginalis*. Las especies de *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus iners* se encuentran en mayor proporción durante la posmenopausia.⁶ En la tabla 1 se puede apreciar el cambio en la microbiota de la vagina en diversas edades de la mujer.

MICROBIOTA VAGINAL EN DIFERENTES EDADES DE LA MUJER

ETAPAS DE LA MUJER	BACTERIAS PREDOMINANTES EN LA VAGINA	pH
Lactante (0-23 meses)	Complejo <i>Lactobacillus acidophilus</i>	4-4.5
Niña (2-15 años)	Estafilococos coagulasa negativa, estreptococos, <i>E. coli</i>	6-8
Mujer fértil 15-44 años	Complejo <i>Lactobacillus acidophilus</i>	4-4.5
Mujeres menopaúsicas	Microbiota mixta como <i>Mycoplasma</i> , y bacterias anaerobias como <i>Gardnerella vaginalis</i> .	6-7

Tabla 1: Microbiota vaginal en diferentes edades de la mujer. Fuente: Morales, G. (2015). Aspectos clínicos y diagnóstico de laboratorio de la vaginosis bacteriana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 5, pp.611-623.

En lo que se denomina microbiota intermedia se ha encontrado principalmente la presencia de *Lactobacillus iners*, no así en la microbiota que se considera sana, lo que es indicativo de que esta especie está presente en la microbiota vaginal inestable.¹⁶ Se ha observado que, entre las cuatro especies, es *Lactobacillus crispatus* la que confiere una mayor protección contra la vaginosis bacteriana, mientras que *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus iners*, son los que confieren la menor protección.⁶

3.3. Infecciones vaginales más frecuentes

De acuerdo a la Guía de Práctica Clínica que habla acerca de la prevención, diagnóstico y tratamiento de la vaginitis infecciosa en mujeres en edad reproductiva en el primer nivel de atención emitido por el CENETEC (Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud) en el 2014, refiere que las infecciones genitales presentan una inflamación de la mucosa vaginal, y que pueden ser causadas por bacterias como son *Gardnerella vaginalis*, Estreptococo del grupo B, por hongos, por lo cual se le denomina candidiasis o por parásitos como *Trichomonas vaginalis*.⁸

Puede presentar diversos signos y síntomas entre los que destacan un aumento en el flujo vaginal, comezón, ardor, mal olor, disuria, dispaurenia. Esta infección puede traer complicaciones como son enfermedad inflamatoria pélvica, complicaciones en mujeres embarazadas, problemas de infertilidad entre otros.⁸

Entre las infecciones vulvovaginales más frecuentes en la mujer se encuentran:

- Vaginosis bacteriana: Infección polibacteriana, que se caracteriza por no presentar un estado inflamatorio. Se observa un incremento del flujo vaginal que se torna blanquecino y presenta un olor fétido.⁹

- Vulvovaginitis por *Candida sp*: Hay inflamación de vulva y vagina, por diversas levaduras, la que cursa con mayor incidencia es *Candida albicans* la cual es responsable de hasta el 90% de los episodios,^{9,29} pero también pueden ser causantes *Candida krusei*, *Candida tropicalis* y *Candida glabrata*, esta infección es consecuencia de una disminución del estado inmunológico local. Presenta síntomas como prurito, disuria, dispaurenia, se produce un aumento en la secreción vaginal que va a tener aspecto grumoso, blanquecino y presencia de escozor en genitales externos.⁹ Se observan también lesiones cutáneas en periné y vulva, presencia de eritemas en la mucosa vaginal con secreción blanquecina fácilmente desprendible al tacto.²⁹

- Vulvovaginitis por *Trichomonas vaginalis*: Se le considera una infección de transmisión sexual, aunque también se ha observado su transmisión por fomites; su incidencia y prevalencia se mantiene constante en los países en vías de desarrollo, no así en los países occidentales donde se observa una disminución.⁹ Entre los signos y síntomas presentes se encuentra mal olor, abundante secreción vaginal que presenta una coloración amarillo-verdosa e irritación en la zona vulvar con prurito intenso.⁹ A la observación la mucosa vaginal se presenta hiperemica, se encuentra moteada por zonas hemorrágicas o petequias.²³ El diagnóstico se realiza por la observación del frotis en fresco mediante la visualización del parásito y su movimiento.⁹ Entre las complicaciones que causa este parásito son embarazos de alto riesgo debido a que produce la ruptura temprana de membranas amnióticas, partos prematuros, infantes

de bajo peso, neumonía en recién nacidos, mayor susceptibilidad a la infección por VIH y predisposición para cáncer cervicouterino.³⁰

- *Chlamydia trachomatis*: Se considera una infección de transmisión sexual, puede presentarse en su forma asintomática o con presencia de dolor de hipogastrio, ardor al orinar, secreción vaginal es escasa o nula, y cuando la hay es mucopurulenta y fétida con sangrado poscoito, prurito durante el coito y un pH mayor a 4.5.^{8, 23} Es causante de cuadros relacionados con la transmisión sexual, como linfogranuloma venéreo y uretritis no gonocócicas.¹⁹ Además es capaz de producir en la mujer salpingitis, embarazos ectópicos e infertilidad.²⁹

3.4. Definición de vaginosis bacteriana

La vaginosis bacteriana es definida como “una alteración de la flora vaginal, en la cual hay disminución de los lactobacilos y aumento de bacterias anaerobias y de otros microorganismos como *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus sp* o *Mycoplasma*” presenta un aumento en la secreción vaginal, generalmente de color blanco grisáceo, mal olor y la característica más importante es la ausencia de síntomas inflamatorios.¹⁰

3.5. Epidemiología

La vaginosis bacteriana constituye un tercio de las infecciones vulvovaginales; es la infección vaginal que se presenta con más frecuencia en mujeres que se encuentran en rango de edad entre 15-44 años.¹¹ Su frecuencia se ha reportado entre un 11 y 48%, presentándose con mayor frecuencia en forma asintomática. Se ha descrito que su presencia en las mujeres depende de la población estudiada.¹²

De acuerdo a los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), en un estudio americano realizado a 21 millones de evaluadas, se obtuvo un 29.2 % de prevalencia de vaginosis bacteriana y tan solo un 15.7% presento síntomas.¹³

La vaginosis bacteriana tiene mayor prevalencia en países subdesarrollados que en aquellos llamados de primer mundo, de igual forma los valores más altos de prevalencia son reportados en sexoservidoras y clínicas de ETS,⁶ a pesar de que se considera una infección de tipo universal, en E.U.A. tiene mayor prevalencia sobre las mujeres afroamericanas,

asimismo en diversos estudios se considera que las hispanas presentan un mayor riesgo de vaginosis bacteriana.¹⁴

La razón del porque es una enfermedad más frecuente en mujeres de raza negra no está esclarecida del todo, no es claro si es debido a que presentan ecosistemas vaginales diferentes o a la diferencia de factores culturales.¹³ Además se considera que la prevalencia de vaginosis bacteriana es alta en parte debido a la falta de sintomatología y a que los métodos de diagnóstico carecen de especificidad.²⁹

3.6. Factores de riesgo asociados a la vaginosis bacteriana

Entre los factores de riesgo que se encuentran para que una mujer pueda desarrollar vaginosis bacteriana encontramos la raza y la etnia, ya que es más común en mujeres afroamericanas.

15

El consumo de cigarrillos también es un factor predisponente, ya que se tiene la teoría de que los carcinógenos que poseen los cigarrillos pueden concentrarse en el moco cervical y de esta forma provocar la muerte de los lactobacilos. El riesgo de adquirir vaginosis bacteriana es proporcional al número de cigarrillos que son consumidos por día, esto provoca la acumulación de los químicos teniendo como consecuencia la alteración directa de la microbiota y produciendo asimismo inmunosupresión local.⁵ El uso de duchas vaginales también se considera contraproducente.¹⁵

El uso de antibióticos de amplio espectro para el tratamiento de otras infecciones puede contribuir a la disminución o muerte de la microbiota vaginal, promoviendo de esta forma la infección.¹¹ Un factor de riesgo que también debe ser considerado es la dieta; ya que un alto consumo de grasas está asociado con un desarrollo de vaginosis bacteriana, mientras que al aumentar la ingesta de Vitamina A, folatos y calcio puede disminuir el riesgo de desarrollarla.

13, 14

Un aspecto a considerar es si la vaginosis bacteriana se le podría clasificar dentro de las infecciones de transmisión sexual; existe discrepancia en este tema y se le considera controversial, lo que está claro es que, si bien es cierto es frecuente en mujeres que iniciaron a edad temprana su vida sexual, han tenido múltiples parejas sexuales, realizan la práctica de sexo oral, han tenido como pareja sexual a otra mujer, tienen relaciones sexuales sin

protección; también se ha encontrado que la vaginosis bacteriana afecta a mujeres que aún no tienen relaciones sexuales o que presentaban un período amplio de abstinencia en el momento de presentar la enfermedad por lo que no se debería considerar a la vaginosis bacteriana como una infección de transmisión sexual (ITS), solo se deberían considerar a las conductas sexuales como factores que tienen alta probabilidad de causar este síndrome.¹⁶

3.7. Bacterias asociadas a la vaginosis bacteriana

En diversos estudios realizados, se ha observado que en la vaginosis bacteriana existe un incremento de 1000 veces en la cantidad de bacterias anaerobias¹⁰, mientras que la población de lactobacilos va disminuyendo; entre los agentes asociados a la vaginosis bacteriana se encuentran: *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Prevotella spp.*, *Bacteroides spp.*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* y *Eubacterium spp.*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*.¹⁷

Con el uso de técnicas de biología molecular han podido identificarse otras bacterias asociadas a la vaginosis bacteriana, como es el caso de *Atopobium vaginae*, especies de *Bifidobacterium*, *Megasphaera*, *Leptotrichia*, *Eggerthella*, *Dialister*, *Clostridium*, *Gamella*, *Veillonella*, *Snaethia*, *Streptobacillus*, *Acetivibrio*, *Eubacterium*, *Peptoniphilus*, *Slackia*, *Aerococcus*, *Olsenella* y otras especies que están pendientes de clasificar taxonómicamente, las cuales, para fines prácticos se han llamado bacterias asociadas a la vaginosis bacteriana (BVAB), las cuáles están presentes generalmente en forma de bacilos pequeños (cocobacilos) y pueden ser gramnegativos o gramvariables, que son fácilmente diferenciables de los lactobacilos.⁵

3.7.1. *Gardnerella vaginalis*

Está presente en forma de cocobacilo, es anaerobio facultativo, inmóvil, no presenta cápsula y no forma esporas. Presenta una pared celular grampositiva, pero la capa de peptidoglicano es más delgada, por lo cual diversas cepas de *Gardnerella vaginalis* pueden aparecer como grampositivas, gramnegativas o gramvariables.¹⁸ *Gardnerella vaginalis* está presente en 40-50% de las mujeres sanas y sin diagnóstico de vaginosis bacteriana.³¹

Gardnerella vaginalis presenta una toxina citolítica, que lisa eritrocitos, específicamente de humanos, además de que esta misma toxina presenta la capacidad de romper células epiteliales, lo que explica la morfología típica de las células guía.¹⁹ Puede también elaborar productos catabólicos que favorecen el crecimiento de bacterias anaerobias, se considera también un microorganismo dominante, ya que se adhiere a las células epiteliales vaginales exfoliadas a un pH alcalino el cuál es óptimo, produciéndose células guía.³¹

Para observar su crecimiento en agar sangre humana es necesario incubar en condiciones de anaerobiosis durante 48 horas, observándose colonias traslúcidas de 0.3-0.5 mm de diámetro, produciendo hemólisis beta, para las pruebas de catalasa y oxidasa dan como resultado negativo.¹⁹ La adquisición de esta bacteria aumenta con el contacto sexual, ya sea por masturbación, sexo oral y/o penetración.

3.7.2. *Mobiluncus spp*

El género *Mobiluncus*, está compuesto por dos especies, *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris*, éstos presentan una morfología curva, son organismos anaeróbicos y tienen flagelos. Su temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 35 y 42 °C, en un rango de pH de 6-7.2.²⁰

Mobiluncus mulieris es gramnegativo, presenta de 1 a 8 flagelos,¹³ mientras que *Mobiluncus curtisii* suele presentarse como gramvariable o grampositivo y presenta 6 flagelos.⁸ Por medio de microscopía electrónica se ha observado que poseen una pared celular del tipo grampositivo, generalmente se presentan como organismos curvos en forma de coma, delgados, son de cultivo lento y fastidioso.¹⁹

Es capaz de producir una toxina que puede desprender capas monocelulares, lo que la hace un factor de virulencia. Además de que posee un alto grado de adherencia, lo que podría dar lugar a las células clave.¹⁴

Si la bacteria es observada en la tinción de Gram, en muestras de mujeres que presentan flujo vaginal abundante, es diagnóstico de vaginosis bacteriana, ya que son las únicas bacterias que presentan esta morfología.¹⁴ *Mobiluncus sp* se encuentra presente en un 95% de las mujeres que cursan con vaginosis bacteriana y se encuentra prácticamente ausente en la mujer que no presenta esta enfermedad.³¹

3.7.3. *Prevotella spp*

Se presentan como bacilos delgados gramnegativos, dispuestos en pares y algunas veces se presentan como cocobacilos. Su temperatura óptima de crecimiento es entre 35-36° C, desarrollándose en agar sangre de carnero.¹⁴

3.7.4. *Atopobium vaginae*

Es una bacteria anaerobio resistente al metronidazol, en la tinción de Gram se observa como un cocobacilo grampositivo, y produce grandes cantidades de ácido láctico, además produce ácido a partir de manosa y rafinosa y no reduce nitratos. Se observan como colonias de un color blanquecino grisáceo después de su crecimiento por 48 horas en un agar de tripticasa soja que debe ser suplementado con sangre de carnero al 5%, hemina y vitamina K, bajo condiciones de anaerobiosis.^{32, 33}

3.7.5. *Bacteroides fragilis*

Son bacilos gramnegativos anaerobios, resistentes a la bilis, sacarolíticos y tienen como productos finales metabólicos principalmente al succinato y al acetato. Las colonias que se observan en agar sangre en condiciones de anaerobiosis se observan como blancas o grises, de bordes enteros, convexas, opacas o traslúcidas y no presentan hemólisis.³⁴

3.8. Fisiopatología

La vaginosis bacteriana tiene una etiología que aún no se conoce, en el cual hay un disturbio de la microbiota vaginal, el desarrollo de esta enfermedad está asociado con una disminución o pérdida total de los lactobacilos, existen varias teorías acerca de cuál es el factor desencadenante:

- Por la presencia de algún factor exógeno o endógeno, se provoca que los lactobacilos disminuyan, provocando, de esta forma, que las bacterias anaerobias se establezcan.
- Debido a la sobrepoblación de las bacterias anaerobias se reemplacen los lactobacilos.¹⁴
- Debido a que los microorganismos presentes en la vaginosis bacteriana, presentan similitud con los que se encuentran en recto, se sugiere que la enfermedad sea de origen endógeno.¹⁴

Las bacterias causantes de vaginosis bacteriana tienen la capacidad de formar biofilms en las células epiteliales de la vagina; provocando que se desprendan por descamación, y dando lugar a las células guías observables en el frotis vaginal. Debido a la composición química y la estructura del biofilms, se les confiere resistencia a estas bacterias anaerobias frente al H₂O₂ y por supuesto, a los antibióticos.¹⁴

Las causas por las cuales se puede dar el crecimiento excesivo de anaerobios son diversas, entre ellas puede ser que haya una pérdida del “efecto restrictivo” que tiene el lactobacilo al ser la microbiota predominante, que haya un aumento del pH y que los sustratos que pudieran ser provechosos para su crecimiento se encuentren en aumento.³¹

Estas bacterias también son capaces de producir enzimas entre ellas:

- Sialidasas: Su función es la degradación del *mucus*, ayudando a que las bacterias se adhieran al epitelio vaginal.
- Carboxilasas: Son capaces de desdoblar péptidos vaginales en diversas aminas, de las cuáles la trimetilamina es aquella que le da el olor fétido a la leucorrea.
- Ácidos acético y succínico: Inhiben la quimiotaxis, cuando la infección comienza, de monocitos y neutrófilos, dando lugar al desarrollo de las bacterias causantes de vaginosis bacteriana.¹⁴

3.9. Manifestaciones clínicas

Un 50% de las pacientes que cursan con vaginosis bacteriana, son asintomáticas;⁵ las manifestaciones pueden variar; pero entre las más comunes se encuentran: flujo vaginal con “olor a pescado” de color blanquecino o gris, puede haber también sensación de dolor, picazón, y/o quemazón, a la observación no hay inflamación y el cérvix se visualiza normal.⁵ Debido a que la inflamación, la irritación periuretral y el prurito son menores que en pacientes que cursan con tricomoniasis o candidiasis es infrecuente que se presenten la dispareunia o disuria.¹⁶

El flujo vaginal característico de la vaginosis bacteriana es delgado, presenta baja viscosidad, homogéneo, adherente con una consistencia lechosa, no debe ser flocular ni granular.³¹ La

presencia del flujo vaginal no es un signo “patognomónico” de esta enfermedad, ya que se puede observar en diversas vaginitis, por lo que éste o no, no confirma ni excluye el diagnóstico.³⁵

El olor fétido de las descargas vaginales resulta de la producción de aminas, esto debido a la gran cantidad de bacterias presentes en la vagina, este olor se puede agravar después del coito, esto debido a que el flujo seminal al ser alcalino favorece el mal olor.¹⁴

La vaginosis bacteriana puede aumentar el riesgo de desarrollar enfermedad pélvica inflamatoria, endometritis crónica, sangrado uterino anormal,²¹ se asocia también con foliculitis vaginal después de que existan procedimientos invasivos como biopsia endometrial, histerosalpingografía, legrado uterino, inserción de DIU, cesárea e histeroscopia.¹³ Puede también causar una disminución en el éxito de procedimientos de fertilización in vitro y aumenta el riesgo de padecer cistitis.²¹

Se sugiere que puede aumentar la susceptibilidad en la adquisición de gonorrea, *Chlamydia trachomatis*, tricomoniasis, VIH y herpes.⁵ En el embarazo, si existe vaginosis bacteriana se asocia con diversas complicaciones como el aborto, ruptura prematura de membranas y parto a pretérmino.²¹

3.10. Diagnóstico

La realización del diagnóstico de vaginosis bacteriana ha sido un tema controversial, debido a la presencia de pacientes asintomáticas; uno de los métodos diagnósticos que se utilizó fue aquel que se basaba en el examen clínico, el cual presenta muchas fuentes de error, y causa por lo tanto inexactitud.¹⁹ Cuando está presente la vaginosis bacteriana se puede observar una disminución de *Lactobacillus* y el aumento de cocos y bacilos gramvariables y de bacilos gramnegativos curvados, así como también células clave y ausencia de leucocitos.¹⁶

3.10.1. Criterios de Amsel

Amsel fue el primero en proponer un diagnóstico para la vaginosis bacteriana el cual consiste en observar los parámetros clínicos y se puede realizar si cumplen tres de los cuatro criterios:

- Flujo blanco-grisáceo, homogéneo, delgado y pegado a las paredes vaginales
- Presencia de células clave

- pH mayor a 4.5
- Un olor “a pescado”, que es causado por la producción de aminas al mezclarse con hidróxido de potasio al 10%.¹⁷

Las ventajas de este método es que tiene una mayor versatilidad y simplicidad, las deficiencias que se encuentran en este método es que es más subjetivo que la tinción de Gram, y a la observación se comparten características con otras infecciones como la tricomoniasis.

16

3.10.2. Criterios de Spiegel

Se trata de un sistema dicotómico, ya que no categoriza como microbiota intermedia; considerando microbiota normal al predominio de lactobacilos con o sin presencia de cocobacilos gram variable y vaginosis bacteriana a la observación por campo de menos de cinco lactobacilos con más de cinco bacterias de al menos dos de los siguientes: cocobacilos gramvariable/gramnegativo, bacilos curvos gramvariable, bacilos gramnegativos fusiformes y cocos grampositivos.¹⁹

3.10.3. Criterios de Nugent

En 1991 Nugent y cols., implementaron un método para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, el cual se basa en asignar puntajes que van en la escala del 0 al 10 para la evaluación de la flora vaginal, esta escala se basa en una suma entre los siguientes morfotipos bacterianos: *Lactobacillus sp.*, *Gardnerella vaginalis*, y *Mobiluncus sp.* Los resultados del estudio que realizaron indicaba que el criterio para el diagnóstico de vaginosis bacteriana usando la tinción de Gram podría reproducirse entre diferentes lugares.²²

Estos tres grupos se califican en una escala de 0 a 4, dependiendo de cuantos sean observables en el frotis:

- 0= Ningún morfotipo observable
- 1+= Menos de 1 morfotipo por campo
- 2+= 1-4 morfotipos por campo
- 3+= 5-30 morfotipos por campo
- 4+= Mas de 30 morfotipos por campo.¹⁷

La interpretación está basada en sumar las cruces de los morfotipos de las bacterias presentes: 7 puntos o más son diagnóstico de VB; de 4 a 6 puntos se considera microbiota intermedia y de 0 a 3 es considerado normal.¹¹

Este método califica a las bacterias de forma individual y va a proporcionar un análisis cuantitativo que para fines de investigación es muy útil.¹⁷ Se le considera la prueba de oro, y en diversos estudios realizados se observa que presenta mayor sensibilidad y especificidad que los criterios de Amsel.¹⁹

Entre sus ventajas es que al agregar la categoría de microbiota intermedia pierde la dicotomía frente al método de Amsel y que toma en cuenta la microbiota vaginal y no las características clínicas de la paciente.⁶

Las desventajas de este método consisten en que el método de Nugent no considera otras especies bacterianas que pueden ser causantes de VB y que no pueden ser discriminadas por la tinción de Gram, además de que aún no se ha establecido cual es la importancia de las puntuaciones intermedias;¹⁶ conjuntamente al ser un método que implica el conteo de los microorganismos consume más tiempo en la rutina clásica.¹³

La puntuación de Nugent de acuerdo a lo que se observa en el microscopio se puede apreciar en la tabla 2.

CRITERIOS DE NUGENT PARA DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA

CRITERIOS DE NUGENT				
PUNTAJE	<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Mobiluncus</i> sp	<i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Bacteroides</i>	0-3: NORMAL 4-6: INTERMEDIO 7-10: VAGINOSIS BACTERIANA
0	>30	0	0	
1	5-30	1-4	<1	
2	1-4	>5	1-4	
3	<1		5-30	
4	0		>30	

Tabla 2. Criterios de Nugent para diagnóstico de vaginosis bacteriana. Fuente: Unemo, M., Ballard, R., Ison, C., Lewis, D., Ndowa, F.& Peeling, R. (2014). *Vaginosis bacteriana*. En Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (89-93). Suiza: Organización Mundial de la Salud.

3.10.4. Criterios de Ison-Hay

Es un método que consiste en evaluar los morfotipos bacterianos y los clasifica en 5 grados:

- Grado 0: Ausencia de bacterias y presencia de células epiteliales.
- Grado I (microbiota normal): Solo se encuentran presentes lactobacilos en cantidades normales
- Grado II (Microbiota intermedia): Mezcla de morfotipos bacterianos y por consecuente, la disminución de lactobacilos.
- Grado III (Vaginosis bacteriana): Ausencia o escasa presencia de Lactobacilos, con flora bacteriana mixta.
- Grado IV: Presencia de células epiteliales, las cuales se encuentran recubiertas solamente con cocos grampositivos.¹⁷

El grado 0 se observa en aquellas mujeres que han tenido un tratamiento antibiótico intravaginal y el IV se encuentra en mujeres que están colonizadas por cocos grampositivos, en las que no se encuentran lactobacilos, o están presentes en poca cantidad.¹⁷

Entre sus ventajas de este método es que analiza la proporción de las especies bacterianas, tanto de los lactobacilos como de los que están implicados en la vaginosis bacteriana, es menos complicado, y realiza una clasificación precisa de la microbiota para aquellas pacientes que no están cursando con vaginosis bacteriana y debido a ello son más adecuados para la práctica clínica.⁶

3.10.5. Cultivo y técnicas moleculares

El cultivo de los microorganismos que se han asociado a la vaginosis bacteriana no tiene valor diagnóstico. Recientemente se han utilizado métodos moleculares para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, resultando un diagnóstico sensible y específico.¹⁷ Se debe tomar en cuenta que los procedimientos que se basan en demostrar la asociación de un microorganismo en particular a la vaginosis bacteriana, ya sea por técnicas moleculares o cultivo, tienen baja especificidad, debido a que las bacterias que causan esta patología forman parte de la microbiota vaginal normal.²⁷

3.11. Tratamiento

El tratamiento debe de administrarse a las mujeres que presentan sintomatología, lo cual ayuda a reducir los signos de infección, las molestias vaginales y reducen el riesgo de adquirir otra infección de transmisión sexual.¹⁶

Se basa en el uso de dos antimicrobianos anaerobicidas que son metronidazol y clindamicina; el metronidazol va a ser en una dosis de 500 mg por vía oral, dos veces al día durante siete días, metronidazol en gel vaginal al 0.75% una vez al día por cinco días y clindamicina en su presentación de crema vaginal al 2%, una vez al día por siete días.¹⁶

En cuanto al tratamiento en mujeres embarazadas CDC recomienda el uso de metronidazol en menor dosis o clindamicina, ambos deben administrarse por vía oral.¹⁴

Se recomienda que durante el período de tratamiento las mujeres se abstengan de relaciones sexuales y del consumo de sustancias alcohólicas durante el tratamiento y hasta 24 horas después de terminarlo.¹³

La recurrencia en la enfermedad un problema serio de la vaginosis bacteriana debido a diversos factores como son:

- a) Reinfeción por la pareja sexual ya que ésta se encuentra colonizada por microorganismos asociados.
- b) Resistencia de los microorganismos que no mueren durante el tratamiento, solo se inhiben.
- c) Falla en el restablecimiento de la microbiota vaginal protectora
- d) Presencia de un factor no identificado en el huésped, el cual la hace más propensa a la recurrencia.³¹

4. MARCO DE REFERENCIA

- A) Sánchez, J., & cols. (2007) hicieron una revisión acerca de lo que es la vaginosis bacteriana, la microbiota normal y los microorganismos causantes. Refieren también a los factores de riesgo, el diagnóstico clínico basado en los criterios de Amsel, y para el diagnóstico de laboratorio, utilizan los criterios de Nugent. Consideran a los cultivos de *Gardnerella vaginalis* insuficientes para el diagnóstico.²³
- B) Martínez, M., Ovalle, A., Gaete, A., Lillo, E., De la Fuente, F., Araneda, F., Villaseca, R., Salinas, H. (2011) realizaron la comparación de criterios de Nugent y Spiegel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana y analizaron los resultados discordantes por el método de Ison-Hay, en el cual concluyeron que si bien los tres métodos son comparables para el diagnóstico, recomiendan la utilización del método de Ison-Hay debido a las categorías que presenta y observando una mejor discriminación de la microbiota vaginal.²⁶
- C) Lillo, E., Lizama, S., Medel, J., Martínez, A. (2010) realizaron el diagnóstico de vaginosis bacteriana para determinar la prevalencia y evaluar la eficiencia del diagnóstico de los parámetros de Amsel, utilizando el método de Nugent como referencia, aunque el método de Amsel presentó una sensibilidad del 61.2% y una especificidad del 92.3%, los autores recomiendan que el diagnóstico sea efectuado por el procedimiento de Nugent.²⁷
- D) Peregrina, N. (2011) evaluó de la microbiota cervicovaginal en 100 mujeres que estaban infectadas con el virus del papiloma humano y que habían recibido tratamiento de electrocirugía o criocirugía, encontrándose un 11% de frotis compatibles con vaginosis bacteriana, también se encontró que dependiendo del tratamiento recibido la microbiota cervicovaginal se encontró normal en un 72-75%.²⁸

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El diagnóstico de la vaginosis bacteriana no ha sido uniforme a lo largo del tiempo, el primero en proponer un método para el diagnóstico de esta entidad fue Amsel, el cual solo se basa en cuatro parámetros que son el flujo vaginal, el pH, la prueba de aminas y la observación al microscopio para detectar células clave. Posteriormente Nugent creó un método el cual está basado en únicamente la observación al microscopio sin tomar en cuenta las características físicas que presente la paciente; recientemente en 2002, Ison-Hay propusieron tomar en cuenta no solo los microorganismos presentes, sino también las células clasificándolas en grados que van del 0 al V, logrando con esto un avance en la precisión para el diagnóstico.

Debido a la variedad de métodos que existen para determinar la presencia de vaginosis bacteriana, y para poder brindar mejores resultados para diagnóstico y tratamiento de vaginosis bacteriana en el Hospital Regional ISSSTE Puebla es que se plantea la siguiente pregunta:

¿Cuál de los métodos utilizados (Amsel, Nugent e Ison-Hay) es el que apoya mejor el diagnóstico de vaginosis bacteriana?

6. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la vaginosis bacteriana se ha convertido en una de las principales causas de flujo vaginal, se caracteriza por la ausencia de inflamación a diferencia de la tricomoniasis o candidiasis. La vaginosis bacteriana es un problema que se observa frecuentemente, pero debido a la discrepancia que existe entre los métodos de diagnóstico, es difícil de identificar.

El proyecto propuesto pretende comparar los métodos de Ison-Hay, Amsel y Nugent, para conocer cuál es el mejor método de diagnóstico en el Hospital Regional ISSSTE Puebla, para así brindar mejor atención a las derechohabientes, dar un diagnóstico preciso de la entidad que las afecta y por lo tanto coadyuvar en su tratamiento.

7. OBJETIVOS

7.1.OBJETIVO GENERAL

Comparar los métodos de Amsel, Nugent, Ison-Hay para el diagnóstico de vaginosis bacteriana en el Hospital Regional ISSSTE Puebla, para determinar cuál es el mejor en el diagnóstico de esta infección.

7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencia de vaginosis bacteriana en diversas edades por el método de Amsel, Nugent e Ison-Hay.
- Proponer un método eficaz para el diagnóstico de vaginosis bacteriana

8. HIPÓTESIS

El método de Ison-Hay, comparado con el de Nugent y Amsel, es el más eficaz para el diagnóstico de vaginosis bacteriana.

9. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

9.1. Tipo de estudio

Observacional y transversal.

9.2. Definición del universo

Mujeres derechohabientes del ISSSTE que acudan al Laboratorio Clínico para la realización de la toma de muestra vaginal y vulvar.

9.3. Tamaño de la muestra

Pacientes que acudieron a toma de muestra vaginal o vulvar durante el período febrero-agosto de 2016.

9.4. Sede y lugar de estudio

Hospital Regional ISSSTE Puebla

9.5. Criterios de selección

- Criterios de inclusión: Pacientes que acuden a toma de muestra para cultivo de Exudado vaginal y vulvar
- Criterios de exclusión: Pacientes que se encuentren durante su período menstrual, que hayan tomado antibióticos, que se encuentren embarazadas al momento de la consulta, que presenten infección fúngica o tricomoniasis.
- Criterios de eliminación: Muestras mal tomadas (de acuerdo a los criterios de rechazo que aparece en la guía de toma de muestras)

9.6. Recursos humanos

eQFB. Anahi Hernández Romero

Estudiante de la Licenciatura de Químico Farmacobiólogo de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

QFB. Guadalupe Jiménez Flores

Responsable del área de Bacteriología del Hospital Regional ISSSTE Puebla

M.C. Patricia Guadalupe Suarez Albores

Profesora de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla del departamento de Microbiología

M.S.P. Claudy Lorena Villagrán Padilla
Profesora de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla del departamento de
Microbiología

9.7. Recursos financieros

Los recursos financieros serán aportados por el tesista y los directores de tesis.

9.8. Diseño estadístico

Prueba de Chi cuadrada.

10. MATERIALES Y MÉTODOS

a) Sujetos de experimentación

Se analizaron las muestras de las pacientes del Hospital Regional ISSSTE Puebla que acudan para la toma de muestra de exudado vaginal y vulvar y cumplan con los criterios de inclusión.

b) Obtención de la muestra de exudado vaginal y vulvar

Para la obtención de muestra de exudado vaginal y vulvar es necesario que las pacientes no hayan consumido antibióticos, no se hayan realizado duchas vaginales, que no estén menstruando, y no haber tenido relaciones sexuales 48 horas antes. Se les indicó en que consiste la prueba y se les mostró que el material era nuevo y desechable, después se les pidió a las pacientes que se quitaran la ropa interior, que se recostaran en la mesa de exploración con la cadera en la orilla y que se colocaran con las piernas abiertas.

1. Exudado vaginal: Se introdujo el espejo vaginal en la vagina, se buscó el endocérvix y se tomó la muestra con tres hisopos del flujo vaginal, se observó su aspecto y color, después se retiraron los hisopos y el espejo vaginal.
2. Exudado vulvar: Con tres hisopos se realizó la toma de muestra de la vulva, cuidando de no lastimar a la paciente y observando el color y aspecto del flujo.

c) Determinación de pH

Para la determinación del pH con uno de los hisopos que contenía la muestra, se realizó la inoculación en la tira reactiva.

e) Prueba de aminas

Para la prueba de aminas con el hisopo que se encuentra en SSI se realizó un frote en una laminilla, se agregaron una o dos gotas de KOH al 10%, y se verificó si se desprendía el olor característico “a pescado”.

d) Tinción de Gram

Se realizó una extensión en una laminilla con un hisopo, se fijó con calor, posteriormente se tiñó siguiendo el protocolo correspondiente a la técnica de tinción de Gram, la cual se utiliza para la observación y clasificación de microorganismos grampositivos y gramnegativos.

e) Análisis al microscopio

Las laminillas que se tiñeron con la tinción de Gram se observaron al microscopio a 100X con aceite de inmersión, para determinar si existía vaginosis bacteriana de acuerdo a los criterios de Nugent e Ison-Hay, y para la observación de células clave.

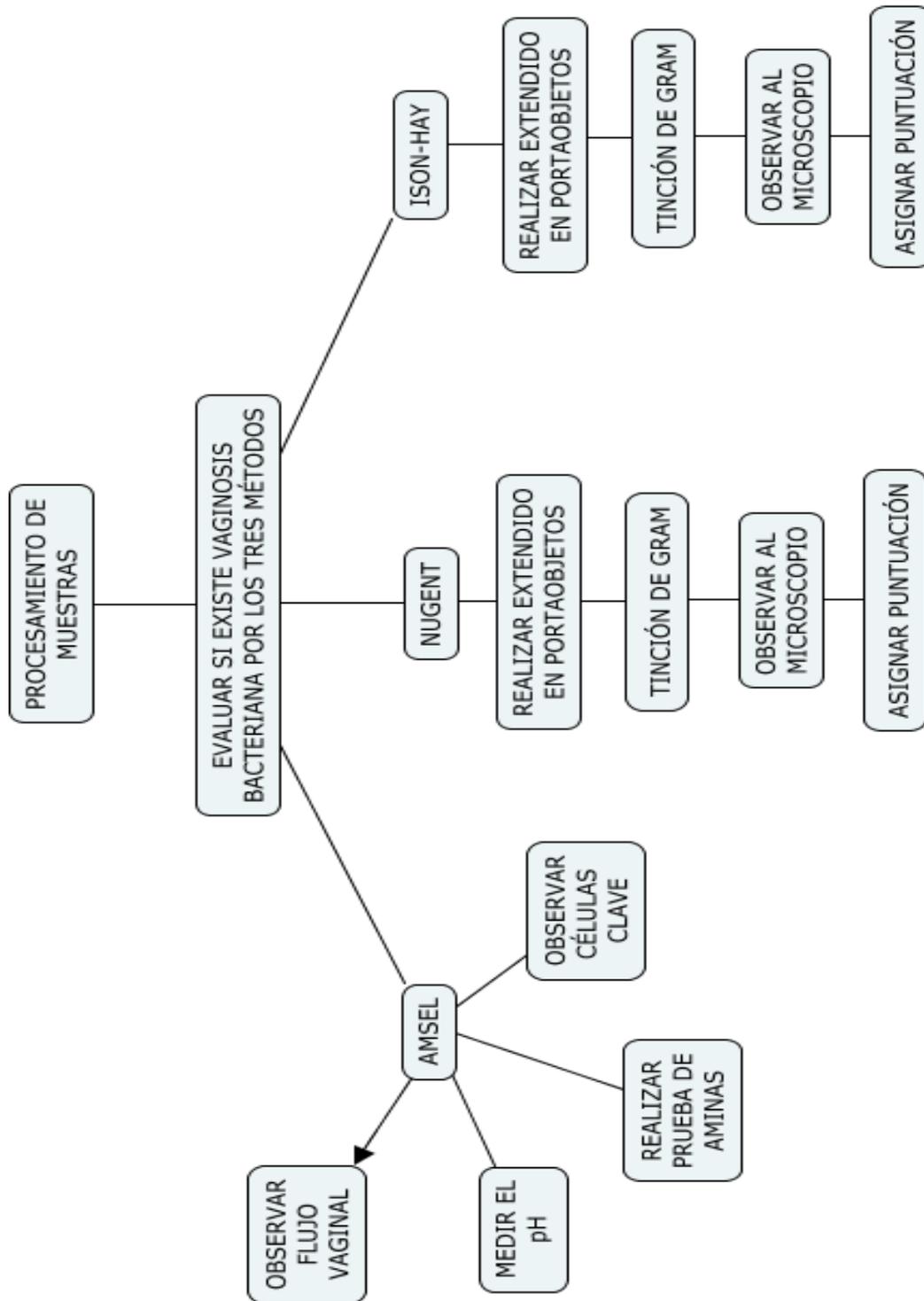
f) Análisis estadístico

Se llevó a cabo utilizando la prueba estadística de Chi cuadrada en el programa Excel 2016, para determinar si existía o no diferencia significativa entre los métodos.

11. DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO



DIAGRAMA PARA PROCESAMIENTO DE MUESTRA



12. RESULTADOS

Durante el período comprendido entre febrero y agosto de 2016, se realizaron 425 exudados vaginales y vulvares, de los cuales 70 muestras no fueron tomadas en cuenta para este estudio debido a que las pacientes estaban embarazadas, en período menstrual, en tratamiento con antibióticos, o que presentaban una infección fúngica o tricomoniasis; lo cual nos deja con un total de 355 participantes.



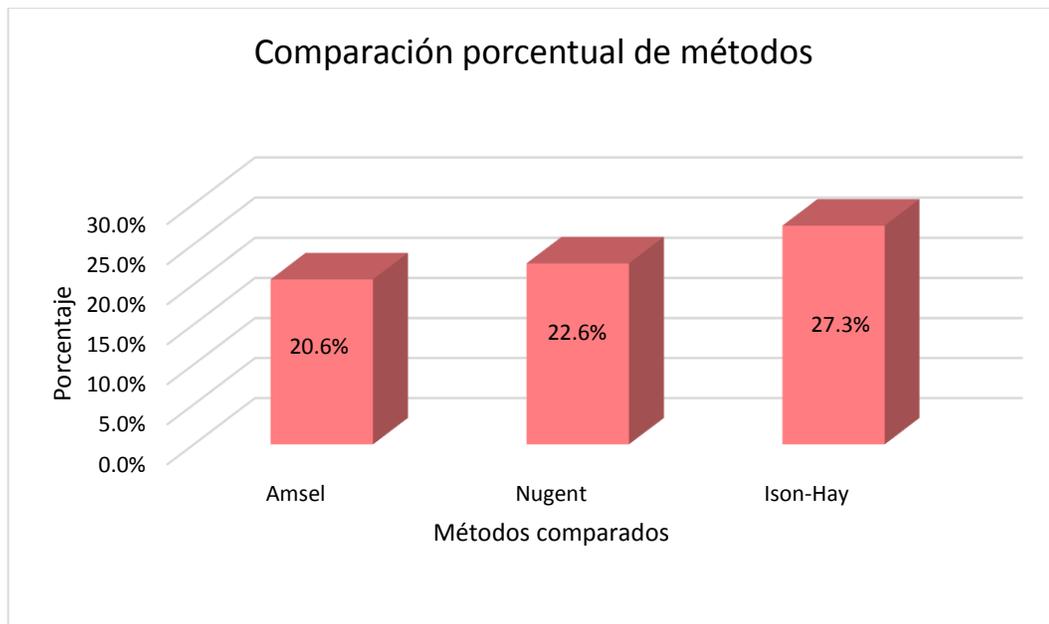
Gráfica 1-. Número de muestras participantes en el estudio

De acuerdo a los métodos utilizados, el método de Amsel diagnóstico vaginosis bacteriana en un 20.6%, mientras que el 79.4% de las muestras restantes las clasificaba como microbiota normal. El método de Nugent clasificó a un 39.1% de las muestras como microbiota normal, a un 38.3% como microbiota intermedia y a un 22.6% como vaginosis bacteriana. El método de Ison-Hay realizó el diagnóstico de vaginosis bacteriana en un 27.3% de las muestras, clasificó como grado I a 29.9%, como grado II a 20.6%, como grado IV a un 11.3% y en grado 0 a 11.2%, como se ilustra en la tabla 3.

TABLA 3. CRITERIO DE EVALUACIÓN PARA DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA	
METODO DE AMSEL	n (%) de muestras clasificadas
Microbiota normal	282 (79.4%)
Vaginosis bacteriana	73 (20.6%)
METODO DE NUGENT	n (%) de muestras clasificadas
Normal	139 (39.1 %)
Intermedia	136 (38.3%)
Vaginosis bacteriana	80 (22.6%)
METODO DE ISON-HAY	n (%) de muestras clasificadas
I.- Normal	106 (29.9%)
II.- Intermedia	73 (20.6%)
III.- Vaginosis bacteriana	97 (27.3%)
IV.- Cocos grampositivos	39 (11.0%)
0.- Ausencia de bacterias	40 (11.2%)

Tabla 3. En la que se observan los 3 métodos empleados y la clasificación de las muestras.

Al realizar la comparación porcentual de los tres métodos se encontró que el que realiza un mayor diagnóstico es el de Ison-Hay con un 27.3% de las muestras, le sigue el método de Nugent al diagnosticar al 22.6% y por último el de Amsel al realizar el diagnóstico de un 20.6% como se ilustra en la gráfica 2.



Gráfica 2. Comparación de los porcentajes de los métodos de Amsel, Nugent, Ison-Hay

Las mujeres con mayor riesgo de presentar vaginosis bacteriana de acuerdo a la edad de referencia de la OMS se encuentran entre los 15 a 44 años como se observa en la gráfica 3, que es considerada la edad fértil de la mujer; en otros estudios concuerdan con este rango de edad como el de mayor riesgo de desarrollo de la enfermedad, con un promedio de edad de 40.5 años.

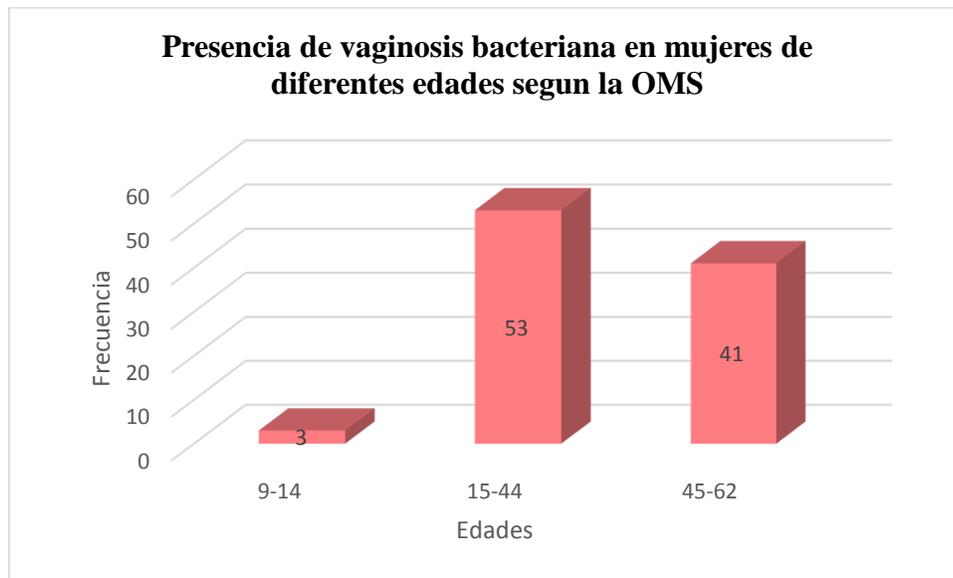


Figura 3. Frecuencia de edades en las que se observa vaginosis bacteriana.

Debido a que el rango de edad de 15 a 44 años descrito por la OMS es muy amplio, se decidió disminuir el rango de edades para la observación a mayor detalle de cuáles son los grupos que tienen mayor riesgo de adquirirla, esta frecuencia se realizó para los tres métodos y se obtuvo como resultado que el grupo de edad que presenta mayor frecuencia de vaginosis bacteriana es el que se encuentra entre los 33-40 años, como se puede observar en la graficas 4, 5 y 6.

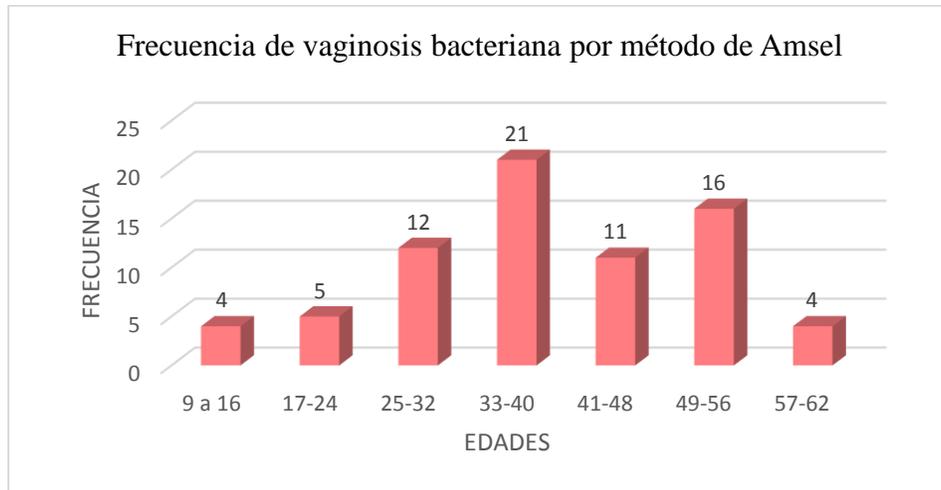


Figura 4. Frecuencia de vaginosis bacteriana diagnosticada por el método de Amsel, se observa que el grupo con mayor riesgo de adquirirla es aquel que se encuentra entre los 33-40 años.

EDADES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
9 - 16	4	5.50%
17-24	5	7%
25-32	12	16.50%
33-40	21	29%
41-48	11	15%
49-56	16	22%
57-62	4	5%

Tabla 4. Frecuencia de vaginosis bacteriana por método de Amsel

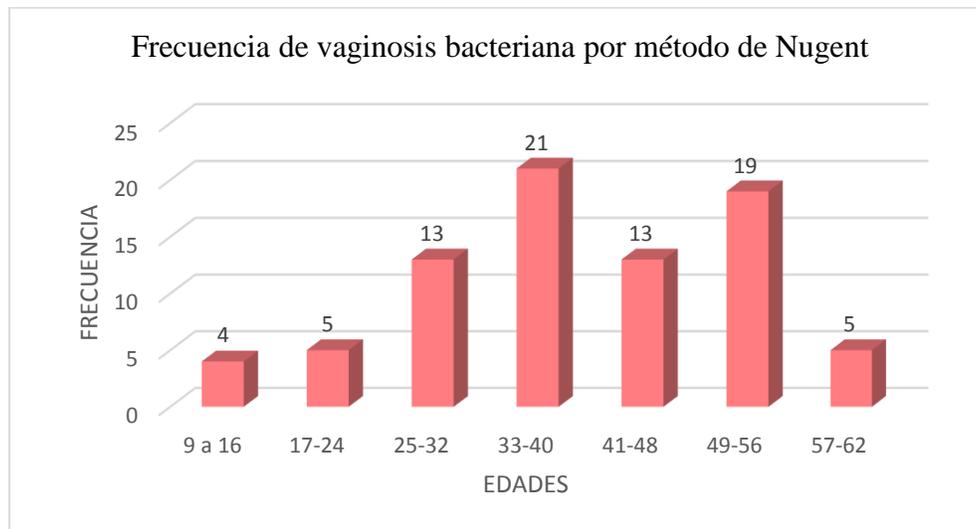


Figura 5. Frecuencia de vaginosis bacteriana diagnosticada por el método de Nugent, se observa que el grupo con mayor riesgo de adquirirla es aquel que se encuentra entre los 44-50 años

Frecuencia de vaginosis bacteriana por método de Nugent		
EDADES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
9-16	4	5.0%
17-24	5	6.0%
25-32	13	16.5%
33-40	21	26.0%
41-48	13	16.5%
49-56	19	24.0%
57-62	5	6.0%

Tabla 5. Frecuencia de vaginosis bacteriana por método de Nugent

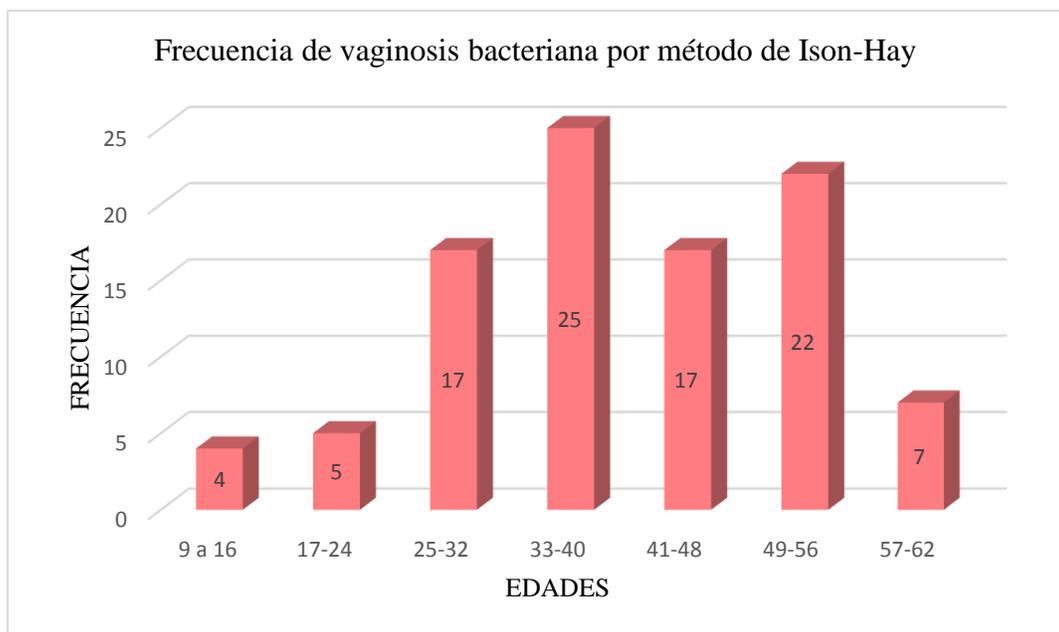


Figura 6. Frecuencia de vaginosis bacteriana diagnosticada por el método de Ison-Hay, se observa que el grupo con mayor riesgo de adquirirla es aquel que se encuentra entre los 44-50 años

EDADES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
9 -16	4	4.0%
17-24	5	5.0%
25-32	17	17.5%
33-40	25	26.0%
41-48	17	17.5%
49-56	22	23.0%
57-62	7	7.0%

Tabla 6. Frecuencia de vaginosis bacteriana por método de Ison-Hay

Por políticas de la propia institución se realiza el cultivo de todos los exudados vaginales, en agar sangre, agar MacConkey, Thayer-Martin y Biggy, y la observación de la laminilla teñida con Gram, teniendo estos datos se obtuvieron como resultados que en 170 de las muestras de los exudados vaginales realizados, no se observó la presencia de bacterias asociadas a infecciones ni se obtuvo crecimiento en los medios de cultivo; de los restantes, se observó la presencia de *Gardnerella vaginalis* en un 25% (64), seguido de *Candida albicans* en un 23.5% (60), el tercer microorganismo aislado fue *Escherichia coli* en un 20%, se detectó la presencia de *Mobiluncus sp* en 10 muestras, en cuanto a *Trichomonas vaginalis*, se observó en el examen en fresco en sólo 1% (2) y no se obtuvo el aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*, esto se puede observar en la figura y en la tabla 7.

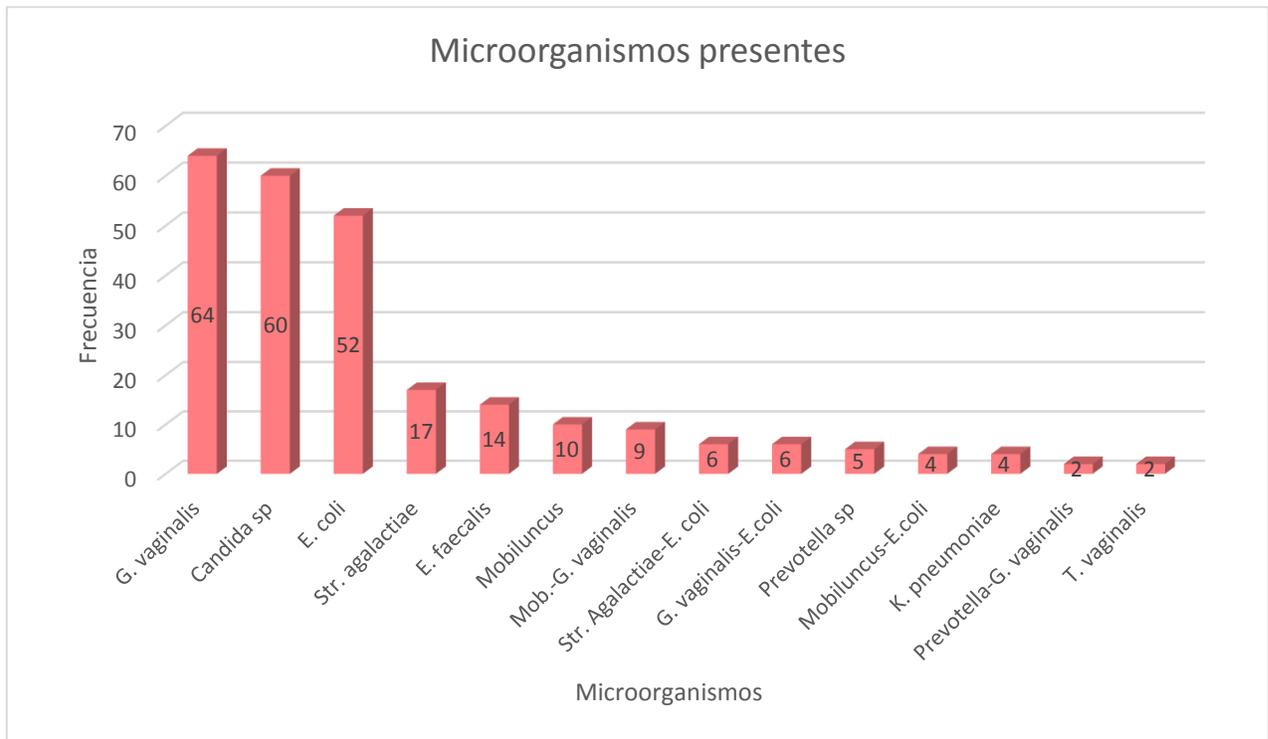


Figura 7. Frecuencia de la observación y/o aislamiento de microorganismos en las muestras de exudados vaginales y vulvares.

MICROORGANISMOS PRESENTES		
Microorganismos	Frecuencia	Porcentaje
<i>Gardnerella vaginalis</i>	64	25.00%
<i>Candida sp</i>	60	23.50%
<i>Escherichia coli</i>	52	20.00%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	17	6.50%
<i>Enterococcus faecalis</i>	14	5.50%
<i>Mobiluncus sp</i>	10	4.00%
<i>Mobiluncus sp. -G. vaginalis</i>	9	3.50%
<i>Streptococcus agalactiae-E. coli</i>	6	2.50%
<i>Gardenerella vaginalis-E.coli</i>	6	2.50%
<i>Prevotella sp</i>	5	2.00%
<i>Mobiluncus-E.coli</i>	4	1.50%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	1.50%
<i>Prevotella-G. vaginalis</i>	2	1.00%
<i>Trichomonas vaginalis</i>	2	1.00%

Tabla 7. Frecuencia de la observación y/o aislamiento de microorganismos en las muestras de exudados vaginales y vulvares.

Al realizar la comparación de los métodos se calculó el valor de 0.08 por medio de la prueba de chi cuadrada, y para una p de 0.05 y con los grados de libertad correspondientes se extrapoló en tablas, observándose que para que los métodos fueran diferentes el valor experimental que obtuvimos debería ser igual o mayor a 5.99, al no obtener este valor se concluye que los métodos no presentan diferencias significativas, por lo que la hipótesis no se comprueba.

METODO	POS	NEG	TOTAL
AMSEL	73	282	355
NUGENT	80	275	355
ISON	97	258	355
TOTAL	250	815	1065

13. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La vaginosis bacteriana constituye una de las infecciones más importantes que afectan al sistema reproductor femenino, debido a que en la mitad de los casos no existen síntomas, durante años se ha complicado su diagnóstico, esto debido a la falta de métodos o a la incongruencia que existe entre ellos. Dentro de las complicaciones que causa esta infección están el incremento en el riesgo de adquirir enfermedades de transmisión sexual, enfermedad pélvica inflamatoria, abortos, ruptura de membranas, entre otras han hecho de mayor importancia su diagnóstico.

Por políticas del instituto a todas las muestras se le realiza cultivo y la observación al microscopio, obteniéndose como principal microorganismo a *Gardnerella vaginalis* en un 25%, seguida de *Candida* sp en un 23.5%. Cabe mencionar que a pesar de que las guías de práctica clínica utilizadas por el sistema de salud mencionan que las infecciones por *Trichomonas vaginalis* están entre las 4 principales infecciones vaginales, en este estudio sólo se lograron observar en 1% (2) de las pacientes, por lo que su incidencia se considera baja, y no se obtuvo el aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*. Se observó la presencia de enterobacterias y cocos grampositivos, que se consideraron agentes causales de vaginitis, esto se debe a que, si bien son considerados parte de la microbiota normal, se utilizaron criterios marcados por la bibliografía como un pH mayor a 4.5 y presencia de leucocitos en el frotis, para que se pudiera realizar esta discrepancia.

De acuerdo a los resultados obtenidos por Peregrina²⁸, encontró que los microorganismos más frecuentes eran, en primer lugar *Candida albicans*, seguido de *Gardnerella vaginalis*, por lo que los resultados obtenidos en este estudio discrepan de los reportados, esto puede deberse a que el tipo de población de su estudio estaba conformada por aquellas mujeres que presentaban una infección por Virus del Papiloma Humano y que habían sido tratadas por electrocirugía y criocirugía, cuyas edades iban de los 16 a los 65 años.

Morales, G., en su artículo⁵: Aspectos clínicos y diagnóstico de laboratorio de la vaginosis bacteriana, menciona que la edad en la que frecuentemente se presenta esta enfermedad va de 15-44 años, esta edad es de acuerdo a la OMS, que la clasifica como la edad fértil de la mujer; los resultados que se obtuvieron en el estudio concuerdan con el autor y confirman

que la vaginosis bacteriana es una infección que es más frecuente en mujeres en edad reproductiva.

Debido a que el rango de edad que va de entre los 15 a los 44 fue considerado muy amplio, y ya que abarcaba a la mayoría de las pacientes, se procedió a dividir a las pacientes en grupos más pequeños en cuanto a edades, para poder realizar una mejor categorización, además de la observación de la frecuencia por los tres métodos, los resultados obtenidos nos muestran que las mujeres que tienen una mayor incidencia a presentar vaginosis bacteriana son las que se encuentran en edades entre 33-40 años, esto puede deberse a es considerada la edad fértil de la mujer, y a que puede haber infecciones por las causas ya mencionadas como son relaciones sexuales, uso de duchas vaginales y a los cambios hormonales a las que se ven sometidas.

En cuanto a los métodos utilizados para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, el método de Amsel clasificó de las 355 muestras como vaginosis bacteriana a un 20.6% (73), Nugent a un 22.6% (80) y el criterio de Ison-Hay a un 27.3% (97).

El método de Amsel comparado con los otros métodos presenta una diferencia entre un porcentaje menor entre 2-5% en la detección, esto se debe a que la vaginosis bacteriana puede o no presentar síntomas, estas diferencias se encontraron en muestras de pacientes que no cumplían con mínimo tres de las 4 características requeridas para el diagnóstico por el método de Amsel, por ejemplo, el pH era menor o igual a 4.5 y no presentaba flujo abundante, pero que a su observación en el microscopio presentaban ausencia de *Lactobacillus* sp., y la presencia de *Gardnerella vaginalis* asociado con *Mobiluncus*.

El método de Nugent entre las ventajas que representa contra el método de Amsel es la observación microscópica de la microbiota vaginal, y que no se basa en las características clínicas que presentan las pacientes, que como se observa, es un parámetro muy subjetivo, por lo que se puede tener una mayor confianza en los resultados obtenidos.

Al comparar los métodos de Nugent y de Ison-Hay, se observó que existen discrepancias en cuanto al diagnóstico, por ejemplo, el método de Nugent asigna un valor numérico a los microorganismos encontrados para realizar una sumatoria, en cambio el método de Ison-Hay es más bien una escala cualitativa, y mientras que el método de Nugent a las muestras sólo

las calificaba como una flora intermedia, en el método de Ison-Hay esta llamada microbiota intermedia se podía categorizar de manera más adecuada.

Entre las diferencias que existieron entre la clasificación de Nugent y la de Ison-Hay, las más significativas fueron las encontradas en aquellas que el método de Nugent clasificó como microbiota intermedia, esta microbiota según Martínez y cols., puede ser considerada como de “transición”, es decir, puede evolucionar a vaginosis bacteriana, generalmente no tiene estabilidad y no se cuentan con estudios precisos acerca de cuál es su función en el ecosistema vaginal. Se obtuvieron 27.3% (97) muestras las cuales correspondían a la categoría III de Ison-Hay, y 11% (39) muestras que clasificaban en el grupo IV, el cual corresponde a la ausencia de lactobacilos con predominancia de cocos grampositivos, estos microorganismos podrían formar parte de la microbiota normal y como sugieren Martínez y cols., es necesario el conteo de células blancas para su correcta interpretación y decidir si se trata de una microbiota normal o una vaginitis. Se encontraron también 11.2% (40) muestras las cuales corresponden a la categoría 0, y que también según el sistema de Nugent clasifica para un estado intermedio, esto debido a que la categoría 0, implica la ausencia total de lactobacilos, lo que en la escala de Nugent corresponde a una puntuación de 4, encontrándose solamente en el frotis la presencia de células epiteliales, esto asociado principalmente a mujeres mayores de 50 años debido a la atrofia que, por razones de edad, se va provocando en el epitelio vaginal.

A pesar de que, al aplicar el método estadístico, no se observaron diferencias significativas entre los tres métodos, el método de Ison-Hay, presenta ventajas sobre el método de Nugent y el de Amsel, como son, una mayor rapidez en la observación de las laminillas al ser un método cualitativo, esto representa una gran ventaja en centros de atención como es el Hospital Regional ISSSTE Puebla, que debido a la carga de trabajo se buscan métodos eficientes y rápidos para el diagnóstico. Otra de las ventajas que presenta el método es que no se requiere tanto tiempo en la capacitación del personal necesario para la lectura de las laminillas, y además presenta un mayor número de categorías, lo que nos lleva a tener un mejor panorama acerca de la microbiota vaginal, lo que influye en el tratamiento de estas infecciones.

El cultivo es la herramienta más utilizada y certera para el diagnóstico de infecciones causadas por bacterias y hongos, en el caso de la vaginosis bacteriana, tiene sus limitaciones, ya que, el principal objetivo es el diagnóstico más rápido y certero, para así poder instaurar un tratamiento correcto, por lo que como la bibliografía señala, el cultivo es un tanto no aplicable, ya que los microorganismos causales como lo son *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* y *Prevotella*, entre otros, son de cultivo lento y necesitan requerimientos especiales para su crecimiento, por lo que para determinar su presencia se requiere de la observación de los frotis utilizando la tinción de Gram.

14. CONCLUSIONES

1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los métodos, por lo que la hipótesis no se comprueba.
2. Se recomienda por cuestiones económicas, de tiempo, facilidad de realizar y para una mejor categorización de la microbiota vaginal, la utilización del método de Ison-Hay.
3. La vaginosis bacteriana se presenta principalmente en mujeres de 33 a 40 años, esto debido probablemente a los cambios hormonales a los que se encuentran expuestas y que afectan a la microbiota vaginal.
4. El microorganismo que se ha observado con mayor frecuencia en las laminillas de los exudados vaginales y vulvares es *Gardnerella vaginalis*.
5. Se ha observado en segundo lugar la presencia de *Candida* sp en un 23.5%.
6. Se encontraron sólo 2 casos (1%) de *Trichomonas vaginalis*.
7. No se encontró la presencia de *Neisseria gonorrhoeae* en los cultivos realizados a los exudados vaginales y vulvares.

15. ANEXOS

15.1. Anexo A: Criterios de rechazo de solicitudes y/o muestras

Si las solicitudes y/o las muestras no cumplen los requisitos mínimos indispensables para su correcto procesamiento el laboratorio deberá aclarar las discrepancias con el servicio que las envió, previo a su realización y en algunos casos será imposible su procesamiento hasta tanto se envíe la muestra correcta. Los siguientes son algunos ejemplos de ello:

- Discrepancia entre la identificación del paciente que figura en la solicitud del examen y la que figura en el contenedor de la muestra. (Para muestras únicas LCR, materiales quirúrgicos) se procesará, pero no se enviará el informe).
- No se indica en la solicitud de examen el tipo de muestra a analizar y/o procedencia anatómica del mismo.
- Muestra enviada en frasco no estéril o con conservantes (alcohol, formol)
- Muestra enviada en envase o tubo con pérdida o derrame
- Muestra inadecuada para realizar el estudio solicitado. (Hisopo seco, un solo hisopo para múltiples estudios, orina colectada de la bolsa del catéter, saliva (expectoración).
- Cultivo anaerobio solicitado en exudado faríngeo, expectoración, orina, secreciones vaginales, úlceras o fístulas entre otras.
- Muestra en cantidad insuficiente para realizar los exámenes solicitados (Si no es posible, establecer prioridades de procesamiento en acuerdo con el médico tratante).
- Muestras repetidas por más de una vez en el mismo día, excepto hemocultivos.
- Muestra evidentemente contaminada.

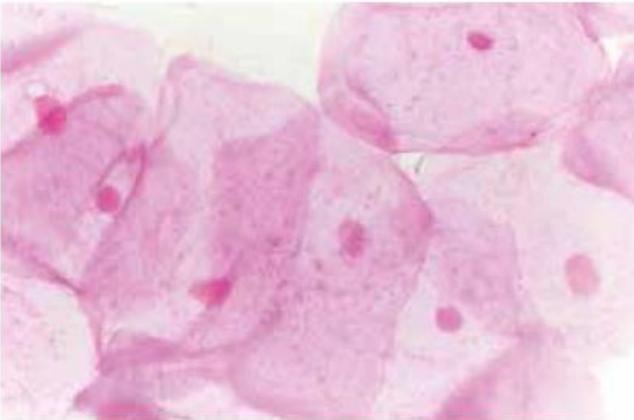
15.2. Anexo B: Criterios para diagnóstico de vaginosis bacteriana

CRITERIOS DE AMSEL	
Secreción vaginal, homogénea, adherente, grisácea	
pH mayor a 4.5	
Prueba de aminas positiva	
Presencia de células clave	

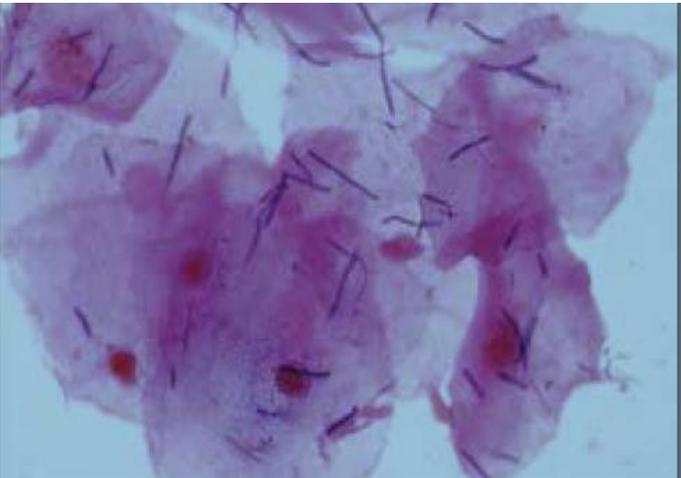
CRITERIOS DE NUGENT					
PUNTAJE	<i>Lactobacillus</i> <i>sp</i>	<i>Mobiluncus</i> <i>sp</i>	<i>Gardnerella</i> <i>Bacteroides</i>	<i>vaginalis/</i>	0-3: Normal 4-6: Intermedio 7-10: Vaginosis bacteriana
0	>30	0	0		
1	5-30	1-4	<1		
2	1-4	>5	1-4		
3	<1		5-30		
4	0		>30		

CRITERIOS DE ISON-HAY		
I	Microbiota normal	Lactobacilos
II	Microbiota intermedia	Lactobacilos + morfo tipos
III	Vaginosis bacteriana	Mixta, ausencia o escasos lactobacilos
IV	Microbiota compuesta por cocos grampositivos	
0	Elementos celulares y ausencia de bacterias	

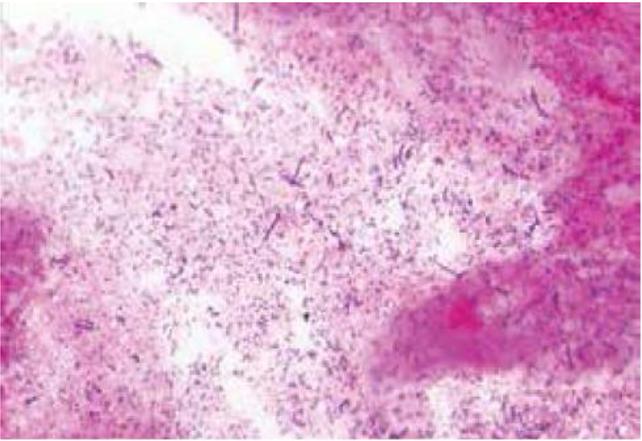
15.3. Anexo C: Observación al microscopio de las distintas categorías de Ison-Hay



Grado 0:



Grado I



Grado II:

Grado III:

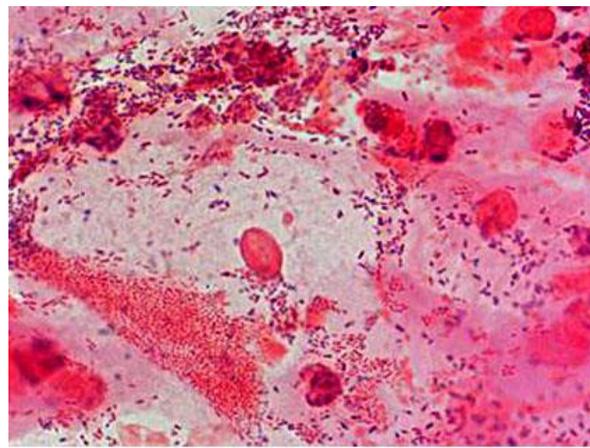
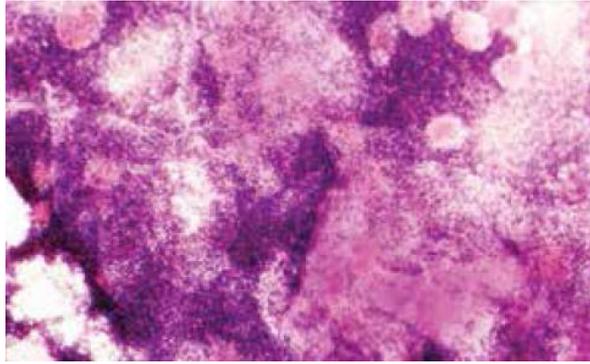
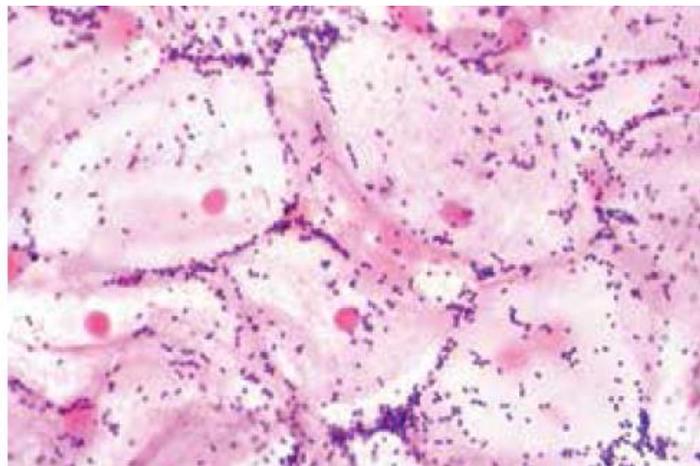


Fig. Tinción de gram de la secreción vaginal de una paciente con VB. Note la abundancia de los cocobacilos gram negativos y la escasez de bacilos grandes gram positivos (lactobacilos). Tomado de Verhelst y colaboradores, 2005.²⁴



Grado IV:

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Forbes, A., Sahm, D., & Weissfeld, A. (2009). *Bailey & Scott: Diagnóstico microbiológico*. Buenos Aires: Médica Panamericana. p. 856
2. Tatti, S. (2008). *Colposcopia y patologías del tracto genital: en la era de la vacunación*. Buenos Aires: Médica Panamericana. pp. 3-7
3. Bajo, J. M., Lailla, J. M., & Xercavins, J. (2009). *Fundamentos de ginecología*. Mexico: Editorial Panamericana.
4. Truter, I., Graz, M. (2013, diciembre 29). Bacterial vaginosis: Literature review of treatment options with specific emphasis on non-antibiotic treatment. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7, pp.3060-306
5. Morales, G. (2015). Aspectos clínicos y diagnóstico de laboratorio de la vaginosis bacteriana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 5, pp.611-623.
6. Martínez, W. (2013). Actualización sobre vaginosis bacteriana. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, pp.427-441.
7. Martín, R., Soberón, N., Vázquez, F., & Suárez, J. (2008). La microbiota vaginal: composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 26, pp.160-167
8. Gobierno de México. Instituto Mexicano del Seguro Social. (2014). Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la vaginitis infecciosa en mujeres en edad reproductiva en el primer nivel de atención. Ciudad de México: CENETEC. Recuperado el 2 de septiembre de 2016 desde: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/081_GPC_Vaginitisinfec1NA/Vaginitis_RR_CENETEC.pdf
9. Cancelo, M., Beltrán, D., Calaf, J., Campillo, F., Cano, A., Guerra, J., & Neyro, J. (2013, marzo 16). Protocolo Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia de diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. Protocolo actualizado en 2012. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 56, pp.278-284.
10. Mejía, D. &. (2015). Características operativas del diagnóstico clínico con y sin pruebas de consultorio (ph y prueba de aminas) para el diagnóstico de vaginosis

- bacteriana, en pacientes sintomáticas en Bogotá, Colombia. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, pp.253-262.
11. Morales, G. (2015). Aspectos clínicos y diagnóstico de laboratorio de la vaginosis bacteriana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 5, pp.611-623.
 12. Cardona, J., Valencia, M., Suarez, J., & Herrera, D. Prevalencia de vaginosis bacteriana en una institución prestadora de servicios de salud en Medellín, Colombia. *Investigaciones Andia.*, 17, pp. 1151-1165
 13. García, P. J. (2007). Vaginosis Bacteriana. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 167-171.
 14. De la Calle, I., De la Calle M. (2009). Vaginosis bacteriana. *Medicina clínica*, 20, pp. 789-797.
 15. Datcu, R. (2013). *Characterization of the vaginal microflora in health and disease*. PHD. University of Copenhagen
 16. Romero, D. & Andreu, A. (2016). Vaginosis bacteriana. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 34, pp.14-18.
 17. Unemo, M., Ballard, R., Ison, C., Lewis, D., Ndowa, F.& Peeling, R. (2014). *Vaginosis bacteriana*. En Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (89-93). Suiza: Organización Mundial de la Salud.
 18. Sacoto J, Salazar Z, Tapia J, López A. Girón, 2014. Estudio Descriptivo: Gardnerella Vaginalis en Pacientes con Vaginosis Bacteriana que Acuden a la Consulta Ginecológica del Hospital “Aida León de Rodríguez Lara”. *Rev Med HJCA* 2015; 7(2): pp.139-144.
 19. Arnold, M., González, A. & Carbonell, T. Diagnóstico de vaginosis bacteriana. Aspectos clínicos y estudios microbiológicos. *Rev Méd Electrón* [Internet]. 2014 May-Jun;36(3). Disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202014/vol3%202014/tema09>.
 20. Balows, A., Hausler, W.J., Ohashi, M., Turano, A. (1988). *Laboratory Diagnosis of infectious diseases principles and practice*. New York: Springer Verlag.

21. Trejos, R. (2012). Vaginosis bacteriana. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica*, 69, pp.183-187
22. Nugent, R., Krohn, M. and Hillier, S. (1991). Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(2), pp.297-301.
23. Sánchez, J., Coyotecatl, L., Valentin, E., Vera, L. and Rivera, J. (2007). Diagnóstico clínico, de laboratorio y tratamiento de la vaginosis por *Gardnerella vaginalis*. *Universitas Médica*, 48(4), pp.382-393.
24. Hoffman, B., Schorge, J., Schaffer, J., Halvorson, L., Bradshaw, K. & Cunningham, G. (2014). *Ginecología de Williams*. México: McGraw-Hill INTERAMERICANA EDITORES.
25. Testa, R. (2011). *Ginecología: Fundamentos para la práctica clínica*. México: Panamericana, pp.31-33.
26. Martínez, M., Ovalle, A., Gaete, A., Lillo, E., De la Fuente, F., Araneda, F., Villaseca, R. and Salinas, H. (2011). Comparación de los criterios de Nugent y Spiegel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana y análisis de los resultados discordantes por el método de Ison y Hay. *Revista Médica Chile*, 139, pp.66-71.
27. Lillo, E., Lizama, S., Medel, J. and Martínez, M. (2010). Diagnóstico de vaginosis bacteriana en un consultorio de planificación familiar de la Región Metropolitana, Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 3, pp.199-203.
28. Peregrina, N. (2012). *Evaluación de la microbiota cervico-vaginal (Lactobacillus sp.) en mujeres infectadas por el virus del papiloma humano, post-tratadas con criocirugía y electrocirugía*. Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
29. Cancelo, M., Beltrán, D., Calaf, J., Campillo, F., Cano, A., Guerra, J. & Neyro, J.. (2013, marzo 16). Protocolo Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia de diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. Protocolo actualizado en 2012. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 56, pp.278-284.
30. Valdez, J., Abad, M., Vallejos, M. & Enríquez, M.. (2009, octubre). Prevalencia y características clínicas de enfermedades de transmisión sexual en mujeres atendidas

- en el Hospital Universitario de Puebla, 2008. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 30, pp. 19-24.
31. Gómez, J. (1994). Vaginosis bacteriana. *Revista CES Medicina*, 8, pp.97-103.
 32. De Backer, E., Verhelst, R., Verstraelen, H., Claeys, G., Verschraegen, G., Temmerman, M. & Vaneechoutte, M. (2006, marzo 16). Antibiotic susceptibility of *Atopobium vaginae*. *BMC Infectious Diseases*, pp- 6, 1-6.
 33. Jasper, F. & cols. (2012, Julio). First Report of Spontaneous Intrapartum *Atopobium vaginae* Bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, 2525-2528.
 34. Quesada, C. (2010). Infecciones en humanos por bacterias anaerobias del género *Bacteroides*: actualización en aspectos taxonómicos, bioquímicos, inmunológicos, patogénicos y clínicos. *Revista Biomédica*, 21(2), pp.91-92.
 35. Canto, T., Polanco, L., Fernández, V. & Cupul, G. (2002). Prevalencia de vaginosis bacteriana en un grupo de mujeres de una clínica de planificación familiar. *Gaceta Médica México*, 138, 25-30